

PENGARUH MADU TERHADAP GAMBARAN MIKROSKOPIS TESTIS PADA TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI MONOSODIUM GLUTAMAT

Jethro Budiman¹, Hermawan Istiadi², Siti Amarwati²

¹Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf Pengajar Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang -Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar belakang: Monosodium glutamat (MSG) adalah penyedap makanan yang sering dikonsumsi secara berlebihan, padahal hal tersebut akan berbahaya bagi tubuh, termasuk pada testis. Efek buruk MSG pada testis menjadi hal yang perlu disoroti sebab dapat menyebabkan infertilitas. Madu sebagai antioksidan dapat menangkal efek buruk MSG terhadap testis.

Tujuan: Membuktikan pengaruh pemberian madu dosis bertingkat terhadap gambaran mikroskopis testis pada tikus wistar yang diinduksi MSG.

Metode: Penelitian eksperimental murni "post test only control group design" menggunakan 18 ekor tikus wistar yang terbagi menjadi 3 kelompok, yaitu P1 diberikan MSG 6 mg/g BB/hari, P2 diberikan MSG 6 mg/g BB/hari kemudian diberikan madu 2 g/200 g BB/hari, P3 diberikan MSG 6 mg/g BB/hari kemudian diberikan madu 4 g/200 g BB/hari. Perlakuan selama 30 hari, lalu tikus diterminasi dan dilakukan pengamatan mikroskopis testis dengan kriteria Johnsen.

Hasil: P1 memperlihatkan kerusakan struktur histologi testis dan sebanyak 80% tubulus seminiferus berada pada kategori early maturity arrest. P2 memperlihatkan perbaikan struktur histologi testis dibanding P1 dan sebanyak 73.33% tubulus seminiferus berada pada kategori late maturity arrest. P3 memperlihatkan struktur histologi testis yang paling baik dibandingkan kelompok yang lain dan sebanyak 53.33% tubulus seminiferus berada pada kategori obstructive cases/normal. Uji hipotesis menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara tiap kelompok perlakuan ($p < 0.05$).

Simpulan: Pemberian madu dosis bertingkat memberikan efek protektif terhadap struktur histologi testis yang terpapar MSG.

Kata Kunci: MSG, madu, gambaran mikroskopis testis.

ABSTRACT

EFFECT OF HONEY ON MICROSCOPIC STRUCTURE OF TESTIS IN WISTAR RATS INDUCED TO MONOSODIUM GLUTAMATE

Background: Monosodium glutamate (MSG) is a food seasoning that is often consumed excessively although it is harmful to the body, including on testis. The harmful effect of MSG on testis must be highlighted because it can lead to infertility. Honey as an antioxidant can counteract the harmful effects of MSG on testis.

Aim: To prove the effect of multi level doses of honey on microscopic structure of testis in wistar rats induced to monosodium glutamate.

Methods: True experimental study "post test only control group design" using 18 wistar rats were divided into 3 groups, P1 was administered MSG 6 mg/g BW/day, P2 was administered MSG 6 mg/g BW/day then honey 2 g/200 g BW/day, P3 was administered MSG 6 mg/g

BW/day then honey 4 g/200 g BW/day. The treatment was 30 days, then the rats were terminated and the microscopic structure of testis was observed with Johnsen Criteria.

Results: P1 showed histological structural damage of testis and 80% of seminiferous tubules were in the category of early maturity arrest. P2 showed the repairment of histology structure of testis compared to P1 and 73.33% seminiferous tubules were in the category of late maturity arrest. P3 showed better histological structure of testis compared to others and 53.33% of the seminiferous tubules in the category of obstructive cases/normal. Hypothesis test showed significant difference between each group ($p < 0.05$).

Conclusions: Administration of multi level doses of honey give protective effect to the histological structure of testis which was exposed to MSG.

Keywords: MSG, honey, microscopic structure of testis.

PENDAHULUAN

Monosodium glutamat (MSG) adalah garam natrium yang berasal dari asam glutamat dan banyak digunakan sebagai penyedap rasa makanan. MSG dikonsumsi secara luas di berbagai wilayah dunia dan sering dikonsumsi secara berlebihan dan dalam jangka waktu yang lama, padahal hal tersebut akan berbahaya bagi tubuh.¹⁻³ Konsumsi MSG di Indonesia sendiri terus meningkat setiap tahunnya, yaitu dari 100.568 ton pada tahun 1998 menjadi 122.966 ton pada tahun 2004 berdasarkan survei yang dilakukan oleh P2MI.⁴

Konsumsi MSG yang berlebihan dapat berbahaya bagi tubuh karena MSG dapat bersifat sebagai radikal bebas, eksitotoksin, dan mengganggu kerja dari beberapa enzim tubuh; sehingga dapat merusak struktur histologi organ-organ tubuh; salah satunya pada testis.^{2,3} Hal ini dibuktikan oleh penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa pemberian MSG pada tikus selama 10 dan 30 hari dapat merusak struktur histologi dari sel spermatogenik dan sel sertoli yang terdapat pada testis.⁵ Pengaruh MSG terhadap testis menjadi hal yang perlu disoroti, sebab hal tersebut akan menyebabkan infertilitas, sehingga akan menyebabkan gangguan pada eksistensi manusia.⁶

Tubuh manusia sebenarnya menghasilkan antioksidan (antioksidan endogen) untuk melawan radikal-radikal bebas dan molekul berbahaya lainnya yang ada di dalam tubuh termasuk MSG, namun jika radikal bebas dan molekul berbahaya lainnya tersebut terdapat dalam jumlah yang berlebihan maka tubuh memerlukan antioksidan dari luar tubuh (antioksidan eksogen) untuk melawannya. Antioksidan eksogen dapat berasal dari berbagai macam bahan yang terdapat di alam, salah satunya pada madu.^{7,8} Komponen utama dari madu yang bersifat sebagai antioksidan adalah enzim superoksida dismutase (SOD), enzim katalase, vitamin C (asam askorbat), flavonoid, dan fenolik.^{7,9} Efek madu sebagai antioksidan

dapat menyebabkan efek protektif terhadap radikal bebas untuk berbagai organ di dalam tubuh, salah satunya pada testis. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa madu dapat menurunkan kerusakan struktur histologi dari testis tikus yang diakibatkan oleh *octylphenol* (radikal bebas).⁹

Penelitian ini menjadi relevan untuk dilakukan karena tidak pernah ada penelitian yang mengkorelasikan antara pengaruh madu terhadap gambaran mikroskopis testis pada tikus wistar yang diinduksi monosodium glutamat padahal terdapat fakta bahwa pada konsumsi yang berlebihan, MSG akan berefek negatif pada testis dan adanya celah solusi dari efek protektif madu untuk hal tersebut.

METODE

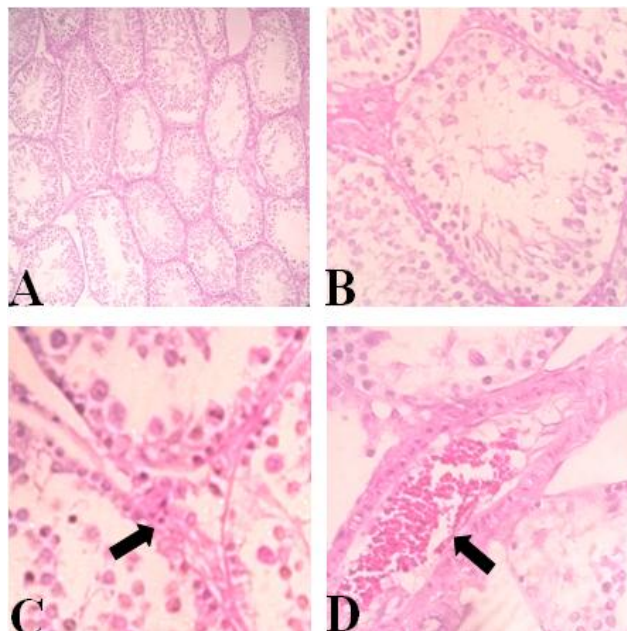
Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan *post test only control group design*. Penelitian dilakukan di laboratorium biologi FMIPA UNNES Semarang (perlakuan penelitian), Laboratorium PA RSUP dr. Kariadi Semarang (pembuatan preparat mikroskopis testis), dan Laboratorium PA FK UNDIP Semarang (pengamatan struktur mikroskopis testis). Sampel penelitian berupa 18 ekor tikus wistar yang memenuhi kriteria inklusi (umur 2-3 bulan, berat badan rata-rata $100-200 \pm 20$ gram), kriteria eksklusi (terdapat kecacatan anatomis), dan kriteria *drop out* (terdapat kecacatan anatomis dan mati selama penelitian). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah MSG (MSG murni) dan madu (madu embun merek Langnese) dengan variabel terikatnya adalah gambaran mikroskopis testis.

Gambaran mikroskopis testis dinilai dengan menggunakan kriteria Johnsen yang dimodifikasi (kriteria Johnsen yang digunakan adalah kriteria Johnsen dengan nilai 1-10; lalu nilai 1,2 masuk dalam kategori *absence of germ cell*; nilai 3,4,5 masuk dalam kategori *early maturity arrest*; nilai 6,7 masuk dalam kategori *late maturity arrest*; dan nilai 8,9,10 masuk dalam kategori *obstructive cases/normal*. 18 ekor tikus wistar dibagi secara acak ke dalam 3 kelompok perlakuan; kelompok perlakuan 1 diberikan MSG 6 mg/g BB/hari, kelompok perlakuan 2 diberikan MSG 6 mg/g BB/hari lalu 60 menit kemudian diberikan madu 2g/200 g BB/hari; kelompok perlakuan 3 diberikan MSG 6 mg/g BB/hari lalu 60 menit kemudian diberikan madu 4 g/200 g BB/hari. Perlakuan penelitian dilakukan selama 30 hari, lalu pada hari ke-31 tikus diterminasi dengan pembiusan lalu dilakukan dislokasi vertebra servikalis kemudian organ testis diambil dan dibuat preparat mikroskopis testis dengan metode blok parafin dan pengecatan HE lalu dilakukan pengamatan mikroskopis testis dan dilanjutkan

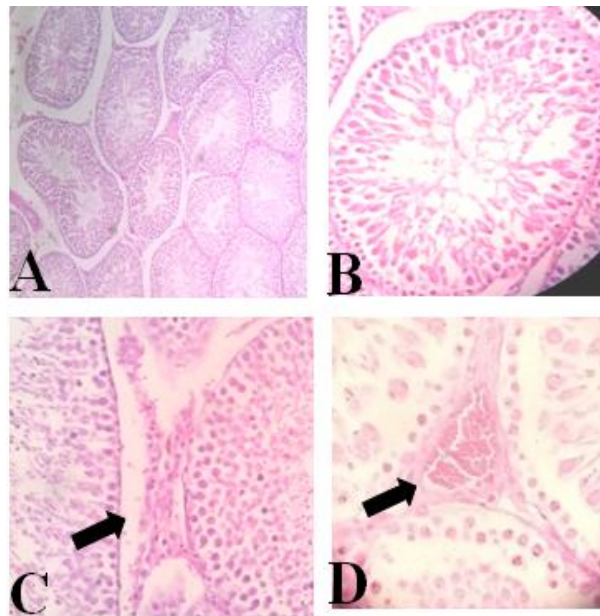
dengan analisis data. Analisis data meliputi uji *kappa*, analisis deskriptif (proporsi), dan uji hipotesis (uji *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*).

HASIL

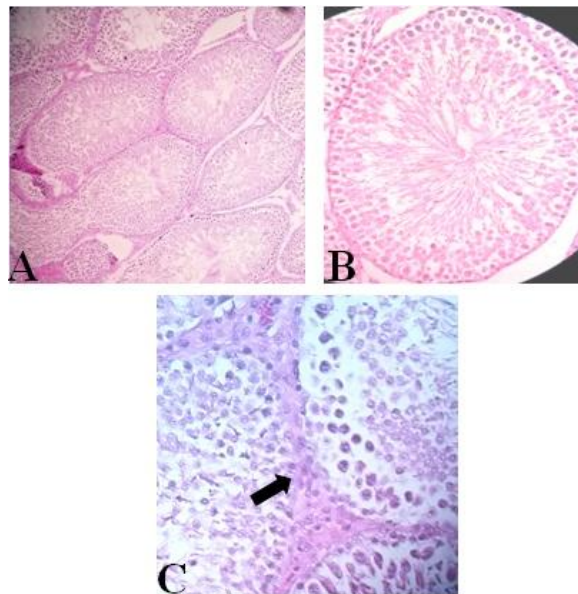
Sampel penelitian tidak ada yang memenuhi kriteria *drop out* maupun tampak tanda-tanda sakit sehingga semua sampel akan dilakukan pengamatan mikroskopis testis dan valid untuk dilakukan analisis data. Gambaran testis pada kelompok perlakuan 1 (gambar 1) secara mayoritas memperlihatkan kerusakan struktur histologi testis baik dari tubulus seminiferus, kompartemen interstitial, sel-selnya (sel spermatogenik, sel sertoli, sel leydig), dan terlihat adanya sel eritrosit. Gambaran mikroskopis testis pada kelompok perlakuan 2 (gambar 2) memperlihatkan kerusakan yang lebih sedikit dibanding kelompok perlakuan 1. Gambaran mikroskopis testis pada kelompok perlakuan 3 (gambar 3) memperlihatkan struktur histologis yang paling baik dibanding 2 kelompok perlakuan lainnya.



Gambar 1. Gambaran mikroskopis testis kelompok 1: (A) perbesaran 100x, (B) perbesaran 400 kali, (C) panah hitam: kompartemen interstitial, (D) panah hitam: sel eritrosit



Gambar 10. Gambaran mikroskopis testis kelompok 2: (A) Perbesaran 100x, (B) Perbesaran 400 kali, (C) panah hitam: kompartemen interstitial, (D) panah hitam: sel eritrosit



Gambar 3. Gambaran mikroskopis testis kelompok 3: (A) Perbesaran 100x, (B) Perbesaran 400 kali, (C) panah hitam: kompartemen interstitial

Nilai kappa yang didapatkan adalah 0.625 sehingga sehingga tingkat kesepakatan data hasil pengamatan dianggap baik (nilai $kappa > 0.6$). Analisis deskriptif dan hasil uji hipotesis dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Analisis deskriptif dan uji hipotesis

Kategori Kelompok	<i>Absence of germ cell</i>	<i>Early maturity arrest</i>	<i>Late maturity arrest</i>	<i>Obstructive cases/normal</i>
Kelompok 1	1 (3.33%)	24 (80%)	4 (13.33%)	1 (3.33%)
Kelompok 2	0 (0%)	2 (6.67%)	22 (73.33%)	6 (20%)
Kelompok 3	0 (0%)	3 (10%)	11(36.67%)	16 (53.33%)

Uji *Kruskal-Wallis*, $p=0.000$ ($p<0.05$)

Uji *Mann-Whitney*; 1 vs 2, $p=0.000$; 1 vs 3, $p=0.000$; 2 vs 3, $p=0.003$; ($p<0.05$)

Tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan 1 paling banyak ditemukan pada kategori *early maturity arrest* (sel spermatogenik terdiri atas sel spermatogonium dan sel spermatosit), yaitu 24 tubulus (80%). Tubulus seminiferus pada kelompok perlakuan 2 sebagian besar ditemukan pada kategori yang lebih baik yaitu *late maturity arrest* (sel spermatogenik terdiri atas sel spermatogonium, sel spermatosit, dan sel spermatid), sebanyak 22 tubulus (73.33%). Kelompok perlakuan 3 memiliki tubulus seminiferus yang mayoritas berada pada kategori terbaik yaitu *obstructive cases/normal* (sel spermatogenik ditemukan lengkap, yaitu sel spermatogonium, sel spermatosit, sel spermatid, dan sel spermatozoa), sebanyak 16 tubulus (53.33%).

Hasil analisa uji hipotesis dengan uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan terdapat perbedaan gambaran mikroskopis testis yang bermakna ($p<0.05$) pada ketiga kelompok perlakuan. Uji hipotesis dilanjutkan dengan analisis *Post Hoc* dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan gambaran mikroskopis testis pada tiap 2 kelompok perlakuan. Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p<0.05$) terhadap gambaran mikroskopis testis pada kelompok perlakuan 1 dan 2, kelompok perlakuan 1 dan 3, dan kelompok perlakuan 2 dan 3.

PEMBAHASAN

Kelompok perlakuan 1 memperlihatkan gambaran mikroskopis testis yang mengalami kerusakan paling berat dibandingkan 2 kelompok perlakuan lainnya dan sebagian besar tubulus seminiferusnya berada pada kategori *early maturity arrest*, bahkan ada 1 tubulus seminiferus (3.33%) yang berada pada kategori *absence of germ cell*. Kategori *early maturity arrest* dan *absence of germ cell* adalah subkategori dari nonobstructive azoospermia, yang mana tubulus seminiferus pada kategori *early maturity arrest* memiliki sel spermatogenik

yang hanya terdiri dari sel spermatogonium dan sel spermatosit, sedangkan tubulus seminiferus pada kategori *absence of germ cell* tidak memiliki sel spermatogenik.¹⁰ Kerusakan struktur histologi testis dan hilangnya sel-sel spermatogenik membuktikan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, bahwa MSG dapat merusak struktur histologi dari testis.⁵ Mekanisme MSG dalam merusak struktur histologi testis dikarenakan MSG dapat bersifat sebagai radikal bebas, eksitotoksin, dan mengganggu kerja enzim-enzim sel tubuh; sifat MSG tersebut akan merusak struktur histologi testis melalui aksis hipotalamus-hipofisis-testis dan secara langsung merusak organ testis.^{3,8}

Kelompok perlakuan 2 memperlihatkan struktur histologi yang lebih baik dibandingkan kelompok perlakuan 1 dan sebagian besar tubulusnya (73.33%) berada pada kategori yang lebih baik, yaitu *late maturity arrest*. Kategori *late maturity arrest* adalah subkategori dari nonobstructive azoospermia, yang mana tubulus seminiferusnya memiliki sel spermatogenik yang terdiri dari sel spermatogonium, sel spermatosit, dan sel spermatid.¹⁰ Struktur histologi yang lebih baik diakibatkan oleh adanya efek protektif madu terhadap organ testis. Madu memiliki efek protektif karena madu dapat bersifat sebagai antioksidan sehingga dapat menangkal efek buruk MSG; komponen utama madu yang bersifat sebagai antioksidan adalah enzim SOD, enzim katalase, vitamin C, flavonoid, dan fenolik; komponen madu lainnya yang dapat berperan sebagai antioksidan antara lain asam organik, beta karoten (prekursor vitamin A), vitamin E, mangan, dan selenium.^{7,9} Perbaikan struktur histologi testis yang diakibatkan oleh efek protektif madu membuktikan penelitian yang telah ada sebelumnya terkait tentang potensi madu sebagai antioksidan.

Kelompok perlakuan 3 memperlihatkan struktur histologi yang lebih baik dibandingkan 2 kelompok perlakuan lain, dan sebagian besar tubulus seminiferusnya (53.33%) berada pada kategori yang paling baik, yaitu *obstructive cases/normal*. Kategori *obstructive cases/normal* adalah kategori yang mana sel spermatogenik pada tubulus seminiferus ditemukan lengkap (sel spermatogonium, sel spermatosit, sel spermatid, dan sel spermatozoa).¹⁰ Hal ini membuktikan bahwa peningkatan tertentu dari dosis madu akan bermanfaat pada efek protektif madu terhadap struktur histologi testis yang terpapar MSG (peningkatan dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah peningkatan dua kali lipat dari dosis kelompok perlakuan 2). Manfaat peningkatan dosis madu terhadap struktur histologi testis sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya.¹¹

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan dari penelitian ini adalah MSG menyebabkan kerusakan struktur histologi testis dan mengakibatkan sebagian besar tubulus seminiferus berada pada kategori *early maturity arrest*, madu memiliki efek protektif terhadap struktur histologi testis yang terpapar MSG, yang mana terdapat perbedaan gambaran mikroskopis testis yang bermakna pada kelompok tikus wistar yang diinduksi MSG dengan kelompok yang diinduksi MSG dan madu. Peningkatan dosis madu meningkatkan efek protektif madu terhadap struktur histologi testis yang terpapar MSG secara bermakna. Saran dari penelitian ini adalah dibutuhkan penelitian lebih lanjut tentang potensi madu selain madu embun, pemeriksaan parameter lainnya dari organ testis serta kesehatan reproduksi pria yang lain; konsumsi MSG hendaknya dibatasi atau dihentikan, mengingat efek negatifnya pada organ testis; madu sebaiknya dikonsumsi untuk mengurangi efek negatif MSG terhadap organ testis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jinab S, Hajep P. Glutamate, its applications in food and contribution to Health. Elsevier [Internet]. 2010 [cited 2014 November 15]; 55(1): 1-10. Available from: National Center for Biology Information.
2. Nosseir NS, Ali MHM, Ebaid HM. A histological and morphometric study of monosodium glutamate toxic effect on testicular structure and potentiality of recovery in adult albino rats. J Biol [Internet]. 2012 [cited 2014 November 15]; 2(2): 66-78. Available from: Scientific Journals.
3. Pasha, RSDM, Wijayahadi N. Pengaruh pemberian monosodium glutamat per oral dalam bumbu masak terhadap fungsi memori spasial tikus. Media Medika Muda [Internet]. 2014 [dikutip 15 November 2014]; 3(1): 1-21. Tersedia dari: Undip E-Journal.
4. Konsumsi msg indonesia meningkat [Internet]. 2012 [dikutip 15 November 2014]. Tersedia dari: www.tempo.co/read/news/2012/01/19/173378387/Konsumsi-MSG-Indonesia-Meningkat
5. Mohamed IK. The effect of oral dosage monosodium glutamate applied for short and long term on the histology and ultrastructure of testes of the adult rats. J Anim Vet Adv [Internet]. 2012 [cited 2014 November 15]; 11(1): 124-33. Available from: Medwell Journals.

6. Devi, PH. Pengaruh rhodamine b per oral dosis bertingkat selama 12 minggu terhadap gambaran histopatologi testis tikus wistar jantan [Skripsi]. Semarang: Universitas Diponegoro; 2013.
7. Widigdo AP, Witjahjo B, Wijayahadi N. Pengaruh pemberian dosis bertingkat madu terhadap gambaran mikroskopis hepar pada mencit strain balb/c jantan yang diberi paparan asap rokok. Media Medika Muda [Internet]. 2014 [dikutip 15 November 2014]; 3(1): 1-19. Tersedia dari: Undip E-Journal.
8. Sitohang HT. Pengaruh pemberian madu terhadap gambaran histologi testis mencit (mus musculus) yang diberi plumbum asetat [Skripsi]. Medan: Universitas Sumatra Utara; 2011.
9. Abu-Zinadah OA, Alsaggaf SO, Shaikh O, Hussein HK. Effect of honey on testicular functions in rats exposed to octylphenol. Life Sci J [Internet]. 2013 [cited 2014 November 15]; 10(1): 979-84. Available from: Life Science Journal.
10. Weedon JW, Bennet RC, Fenig DM, Lamb DJ, Lipshultz LI. Early versus late maturation arrest: reproductive outcomes of testicular failure. J Urol [Internet]. 2011 [cited 2015 May 30]; 186 (2): 621-6. Available from: National Center for Biology Information.
11. Mohammed WH. Hormonal and histological study on the effect of honey on mice male. Eng. and Tech. Journal [Internet]. 2014 [cited 2015 May 30]; 32 (5): 862-8. Available from: University of Technology-Iraq.